云 南 植 物 研 究 6 (3): 333—337, 1984
Acta Botanica Yunnanica

鲁山冬凌草素的结构研究

秦崇秋　刘晨江　李继成　安新宗

（河南省医学科学研究所）

孙汉董*　林中文

（中国科学院昆明植物研究所）

冬凌草甲素和乙素〔rubescensin A（=oridonin），B（=ponicidin）〕为冬凌草〔*Rabdosia rubescens*（Hemsl.）Hara〕中的两个抗癌有效成份，对多种动物移植性肿瘤有一定的抗肿瘤作用，对食管癌、肝癌等有一定疗效[1, 2]。为了进一步探讨不同产地冬凌草的抗癌活性成份，我们对河南省鲁山县地区产的冬凌草进行了研究。从叶的乙醚提取物中除分离到α-amyrin和 ursolic acid外，还分离得到了一个新的二萜苦味成份，命名为鲁山冬凌草素（lushanrubescensin）(1)，药理实验（另报）表明，（1）具有一定的抗肿瘤活性，为冬凌草中的另一抗癌有效成份。文本报道其结构研究。

鲁山冬凌草素（1），甲醇中得无色棱柱状结晶，mp 188—190°C，$C_{28}H_{38}O_{10}$（M^{+1} 535），$[\alpha]^{D}_{13}$-62.1°(C=0.99，C_5H_5N)；λ_{max} (EtOH)：239nm(ε8206)；ν_{max}(KBr)：1703和1645cm^{-1}；^1H NMR(C_5D_5N)δ：6.07和5.37（各1H，s）；^{13}C NMR(C_5D_5N)（见图1）δ：114.5(t)和150.0（环外亚甲基），214.0（s，酮）；以及（1)用PtO_2作催化剂催化氢化得到了二氢化物(3)〔mp 218—220°C，$C_{28}H_{40}O_{10}$(M^{+1}537)〕，(3)的^1H NMR(C_5D_5N)中，δ6.07和5.37的环外亚甲基信号消失，而在δ1.25(3H，d，J=7Hz)处出现一个仲甲基，以上光谱数据提示 lushanru-bescensin（1）有着典型的香茶菜属(*Rabdosia*) 二萜化合物的对映-15-氧-16-贝壳杉烯（ent-15-oxo-16-kaurene）的骨架。

鲁山冬凌草素（1）具有一个仲羟基和四个乙酰氧基：IR 3440(OH)，1730，1248和1225(OAc)cm^{-1}；^1H NMR δ 5.80—5.37(3H，m)，5.33（1H，d，J=3Hz）和4.05(1H，d，J=4Hz)；^{13}C NMR δ 77.5(d)，73.0(d)，71.1（d)，68.2(d）和67.5(d)。这由（1）用醋酐-吡啶乙酰化后生成五乙酰化物（2）（$C_{30}H_{40}O_{12}$，mp 176—179°C）而得到证实。

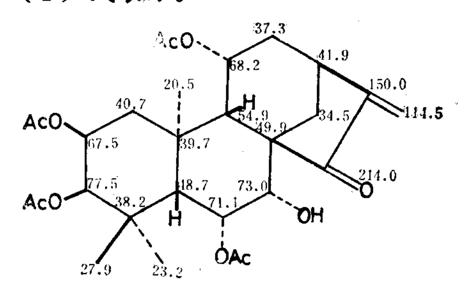
鲁山冬凌草素在CI-MS测定中m/z 295($C_{15}H_{19}O_6$和241($C_{13}H_{21}O_4$)的碎片峰是由于B环断裂而生成的[3]，从而表明了二个乙酰氧基位于A环上，另外二个乙酰氧基和一个仲羟基位于B，C环上。

本文于1984年1月28日收到。

*通讯联系人

(1)的 ^{13}C NMR数据中于δ68.2(d)和67.5(d)的两个次甲基碳的化学位移值说明在 C_2 和 C_{11} 位必然有乙酰氧基存在。因为在对映-贝壳杉烯 (ent-kaurene) 型化合物中，由于 r -立体效应所致，C_2，C_{11} 和 C_6 比其它各个碳有着较高场的化学位移值[4]，这几个碳被氧化成为次甲基碳后，其中 C_2 和 C_{11} 的化学位移值均在δ60—70ppm以内（当 C_7 没有被氧化时，包括 C_6 在内），而其它各个次甲基碳，其δ值均在70ppm以上[5，6]。由 C_{18}〔δ27.9(q)〕和 C_5〔δ48.7(d)〕的高场化学位移值提示A环的另一个乙酰氧基位于 C_3 的β位。这是由于乙酰氧基中羰基对 C_{18} 和 C_5 的屏蔽效应使得这两个碳向高场位移了3—5ppm。另外，由 C_3α—H受到 C_2 乙酰氧基的去屏蔽效应而具有低场的化学位移δ5.33(d，J=3Hz)的事实说明A环的另一个乙酰氧基应位于 C_2—β位[7]。

B、C环中的二个乙酰氧基分别位于 C_6 和 C_{11} 的α位，仲羟基位于 C_7-α位由下列事实得到支持：在(1)的 ^{13}C NMR中，C_{19} 由于受到 C_6α—OAc的去屏蔽作用而有着较低的化学位移值δ23.2(q)；另一方面，由 C_7β—H(δ4.05)的偶合情况（d，$J_{7\beta,6\beta}$=4Hz）也说明 C_6 的—OAc应是α—取向。根据迄今为止从同属植物所分离鉴定的ent-kaurene型二萜化合物的取代情况及其生源考虑，C_7—OH只可能是α—取向。若是β—取向，将由于 C_7—OH r -立体效应的影响，C_5 将位于更高场，事实上由 C_5（δ48.7)的化学位移值说明，C_5 仅受到 C_3β—OAc的屏蔽效应影响，而没有受到其它的屏蔽作用，由此亦说明 C_7—OH为α—取向。最后，关于 C_{11}—OAc的取代，是由 C_{20} 有着异常低的化学位移值〔δ20.5(q)〕清楚表明 C_{20} 除了受到 C_6α—OAc的去屏蔽效应外还受到了来自位于 C_{11}α位的—OAc的去屏蔽效应；这还由在 ^{1}H NMR中 C_{20}—CH_3 具有低场的化学位移〔δ1.51（s)〕得到进一步支持。根据以上所述，我们提议鲁山冬凌草素的结构应以(1)式表示。



4×OAc：δ170.4，170.1，169.6，168.9；21.1，20.9，20.5，20.5

图1 鲁山冬凌草素以 C_5D_5N 作溶剂的 ^{13}C NMR数据(δ/ppm)

(各信号的排布是以宽带去偶，偏共振去偶和类似化合物相比较而指定，22.63MHz下测定)

(1)R=H
(2)R=Ac

(3)

实 验 部 分

熔点用Kofler显微测熔仪测定，未经校正。红外光谱用岛津IR-450型分光光度计测定；紫外光谱用UV-210A型仪测定；MS用Finnigan-4510型质谱仪测定；^{1}H和 ^{13}C NMR

用Brucker WH-90型波谱仪测定。

1.5公斤鲁山冬凌草干叶，乙醚冷浸两次，每次48小时，回收乙醚得提取物56克，甲醇溶解后活性炭脱色，回收溶剂得粘稠状物20克，然后进行中性氧化铝柱层分离。苯洗脱部分得白色残留物，用丙酮处理，得400毫克白色鲁山冬凌草素结晶(收率0.027%)。从氯仿洗脱部分得α-amyrin 300毫克，Ursolic acid 410毫克。

1.鲁山冬凌草素（1） 无色棱柱状结晶(甲醇中结晶)，mp 188—190°C，$[\alpha]_D^{13}$ −62.1°(C=0.99, C_5H_5N).，UV λ_{max}^{EtoH}: 239nm (ε8206). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1}: 3440, 1730, 1703, 1645, 1248和1225. ^{1}H NMR(C_5D_5N)δ: 6.36(1H, s, 7α—OH, D_2O交换消失), 6.07, 5.37 (各1H, s, 17—H_2), 5.80—5.37(3H, m, 2α—, 6β—和11β—H), 5.33(1H, d, J=3Hz, 3α—H), 4.05(1H, d, J=4Hz, 7β—H), 3.00(1H, m, 13α—H), 2.14, 2.03, 1.98和1.83 (各3H, s, 4×OAc), 1.51(3H, s, 20—CH_3), 1.14(3H, s, 18—CH_3), 1.07(3H, s, 19—CH_3); MS (CI 70eV) m/z: 535(M^{+1}), 517(M^{+1}—H_2O), 475(M^{+1}—AcOH), 457 (M^{+1}—AcOH—H_2O), 433 (M^{+1}—AcOH—ketene), 415 (M^{+1}—2×AcOH), 397(415—H_2O), 373 (415—ketene), 355(M^{+1}—3×AcOH), 337(355—H_2O), 313(355—ketene), 295(M^{+1}—4×AcOH), 277(M^{+1}—4×AcOH—H_2O), 267(M^{+1}—4×AcOH—CO). ^{13}C NMR数据见图1。

2.乙酰化物（2） 50毫克（1）加入2毫升1:1的醋酐-吡啶溶液，室温搅拌下乙酰化24小时，常法处理，得残留物51.8毫克，制备薄层分离得（2）45毫克，甲醇中得细针晶，mp 177—179°C. IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1}: 1755—1728, 1645, 1250—1218. ^{1}H NMR (C_5D_5N)δ: 5.98和5.26(各1H, br. s, 17—H_2), 5.66(1H, m, 11β—H), 5.54(1H, d, J=4Hz, 7β—H), 5.48—5.28(3H, m, 2α—, 3α—和6β—H), 2.96(1H, m, 13α—H), 2.24, 2.15, 2.12, 1.98和1.77 (各3H, s, 5×—OAc), 1.54(3H, s, 20—CH_3), 1.14(3H, s, 18—CH_3), 1.02(3H, s, 19—CH_3); MS(CI 70eV) m/z: 517(M^{+1}—AcOH), 475(M^{+1}—AcOH—ketene), 457(M^{+1}—2×AcOH), 415 (M^{+1}—2×AcOH—ketene), 397(M^{+1}—3×AcOH), 355(397—ketene), 337(M^{+1}—4×AcOH), 295(M^{+1}—4×AcOH—ketene), 277(M^{+1}—5×AcOH).

3.二氢化物（3） 取100毫克(1)，溶于6毫升甲醇中，加入约5毫克5%Pd-C作催化剂，室温搅拌下氢化2小时，常法处理得94.3毫克（3），甲醇中重结晶得无色针晶，mp189—191°C. IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1}: 3430, 1760—1715, 1240—1228. ^{1}H NMR (C_5D_5N)δ: 6.16(1H, s, 7α—OH, D_2O交换消失), 5.73—5.42 (3H, m, 2α—, 6β—和11β—H), 5.33 (1H, d, J=3Hz, 3α—H), 3.98 (1H, d, J=4Hz, 7β—H), 2.14, 1.98, 1.96和1.88(各3H, s, 4×OAc), 1.50(3H, s, 20—CH_3), 1.25(3H, d, J=7Hz, 16β—CH_3), 1.19(3H, s, 18—CH_3), 1.04(3H, s, 19—CH_3). MS (CI 70eV)m/z: 537(M^{+1}), 519(M^{+1}—H_2O), 477(M^{+1}—AcOH), 459 (M^{+1}—AcOH—H_2O), 435(M^{+1}—AcOH—ketene), 417(M^{+1}—2×AcOH), 399(M^{+1}—2×AcOH—H_2O), 375(M^{+1}—2×AcOH—ketene), 357(M^{+1}—3×AcOH), 339 (357—H_2O), 315 (357—ketene), 297(M^{+1}—4×AcOH), 281, 269(297—CO).

4.α-Amyrin 甲醇中得无色针晶，mp 182—184°C，对Liebermann-Burchard反应呈

紫红色阳性反应。IR ν_{max}^{KBr}(KBr)cm^{-1}: 3270, 1460, 1380, 1360, 1035, 993. ^1H NMR (C_5D_5N) δ: 5.79(1H, br. s, 3β—OH, D_2O交换消失), 5.25(1H, t, J=4Hz, 12—H), 3.50(1H, m, 3α—H), 1.27—0.91(CH_3). MS (EI 70eV) m/z: 426 (M^+, $C_{30}H_{50}O$), 411(M^+—CH_3), 393(M^+—H_2O), 218(基峰), 203, 189, 175, 161.以上光谱数据与α-amyrin标品一致，混合熔点亦不下降。

5.ursolic acid 甲醇中得白色粒晶，mp 262—266°C，对Liebermann-Burchard反应呈紫红色阳性反应。IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1}: 3430, 1690, 1450, 1380, 1025, 995. ^1H NMR (C_5D_5N) δ: 5.50(1H, t, J=4Hz, 12—H), 3.47(1H, t, J=8Hz, 3α—H), 2.65(1H, d, J=12Hz, 18β—H), 1.26(6H, s, 2×CH_3), 1.04(6H, s, 2×CH_3), 1.06, 0.98和0.90 (各3H, s, 3×CH_3).MS(EI 70eV) m/z: 456 (M^{+1}, $C_{30}H_{48}O_3$), 438(M^+—H_2O), 423 (M^+—H_2O—CH_3), 410 (M^+—H_2O—CO), 395 (410—CH_3), 312, 300, 287, 273, 248 (基峰), 219, 207, 203, 189, 175.以上光谱数据与标品ursolic acid完全一致。

致谢：本研究得到周俊副研究员和张覃沐副教授的关怀，昆明植物研究所李锡文副研究员鉴定植物标本，物理分析仪器组诸同志进行各项光谱测定，在此谨表谢意。

参考文献

〔1〕 河南省医学科学研究所药理药化组，河南医学院化学教研组，云南植物研究所植化室，郑州化学制药厂制剂室，1978：一种新的抗肿瘤物质—冬凌草素，科学通报，1，53—56

〔2〕 张覃沐，陈正玉，晁金华，赵清治，孙汉董，林中文，1981：冬凌草又一抗肿瘤有效成份—冬凌草乙素，科学通报，22，1051—1054

〔3〕 Kubo, I., T. Kamikawa, T. Isobe and T. Kubota, 1974: Bitter principles of *Isodon umbrosus* Hara. The structures of umbrosin A and B. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 47: 1277—1279.

〔4〕 Gonzalez, A., B. M. Fraga, M. G. Hernandez and J. R. Hanson, 1981: The ^{13}C NMR spectra of some *ent*-18-hydroxykaur-16-enes. *Phytochemistry*, 20 (4): 846—847.

〔5〕 Hanson, J. R., M. Siverns, F. Piozzi and G. Savona, 1976: The ^{13}C nuclear magnetic resonance spectra of kauranoid diterpenes. *J. Chem. Soc.* perkin Trans, 1: 114—117.

〔6〕 Yamasaki, K., H. Kohda, T. Kobayashi, R. Kasai and O. Tamaka, 1976: Structures of *stevia* diterpene-glucosides: application of ^{13}C NMR. *Tetrahedron letters*, 13: 1005—1008.

〔7〕 Takeda, Y., T. Fujita and A. Ueno, 1981: Structures of leukamenins. *Chemistry letters*, 1229—1232.

STUDIES ON THE STRUCTURE OF LUSHANRUBESCENSIN

Qin Chonqiu, Liu Chenjiang, Li Jicheng, An Xinzong

(Henan Medical Institute, Zhengzhou)

Sun Handong*, Lin Zhongwen

(Kunming Institute of Botany, Academia sinica)

Abstract

During the course of our studies on the biologically active constituents of *Rabdosia* plants, we examined the ether extract of the leaves of *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara collected in Lushan, Henan. A new diterpenoid, lushanrubescensin (1) was isolated together with α-amyrin and ursolic acid. On the basis of spectroscopic and chemical evidence, the structure of (1) has been established as ent-7β-hydroxy-2α, 3α, 6β, 11β-tetraacetoxy-16-kauren-15-one.